

**Elektrophoretisches Verhalten
und thermische Stabilität
menschlicher Serum- und
Organtransaminasen**

von

GERHARD BEER

aus Cham

Aus der
Medizinischen Klinik
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof.Dr.med.N.Henning)

Elektrophoretisches Verhalten und thermische Stabilität
menschlicher Serum- und Organtransaminasen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Gerhard Beer
aus Cham

1965

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. W.-D. Keidel
Referent: Dr.med. H. Wüst
Korreferent: Prof. Dr.med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Mai 1965

Herrn Dipl.G.I. Max Josef Eisenreich
in Freundschaft gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Die klinische Enzymologie hat durch den Nachweis von Isoenzymen neue erfolgversprechende Anregungen erfahren. Wir verstehen unter Isoenzymen Fermente gleicher Substratspezifität, aber unterschiedlichen Proteinstrukturen. Sie lassen sich elektrophoretisch (8, 15, 18, 20, 24, 25, 31-37, 39, 41), chromatographisch (1, 2, 13, 26) und immunologisch (14, 17) differenzieren.

1952 hat NEILANDS erstmals auf das Vorkommen zweier, elektrophoretisch trennbarer, kristalliner Rindermuskel-Laktatdehydrogenasen hingewiesen. Seither sind in vielen tierischen und menschlichen Organen sowie im Serum Isoenzyme verschiedener Fermente gefunden worden. Der Begriff Isoenzym wurde von MARKERT und MÖLLER (15) geprägt und hat sich inzwischen international eingeführt.

Die klinisch diagnostische Bedeutung der Isoenzyme beruht auf der charakteristischen Fermentzusammensetzung der einzelnen Organe und der Erfahrung, daß unter pathologischen Bedingungen die Isoenzyme, entsprechend ihrer Organverteilung ins Serum gelangen. Aus dem Isoenzymbefund im Serum kann so auf das Herkunftsorgan geschlossen werden.

Am besten ist bisher die Laktatdehydrogenase (LDH) untersucht

(1, 8, 13, 15, 17, 20, 22, 24, 31, 33-41). Es lassen sich fünf Isoenzyme nachweisen, die entsprechend ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit mit LDH_1 bis LDH_5 bezeichnet werden. Die LDH_1 wandert als schnellste Fraktion zwischen Albumin und Alpha_1 -Globulin, die LDH_5 im Gamma-Globulin. Dazwischen reihen sich die mittelschnell wandernden LDH -Isoenzyme₂₋₄ ein.

Im Serum findet sich bei Hepatitis eine Zunahme vorwiegend der LDH_5 , beim Herzinfarkt und der perniziösen Anämie vorwiegend der LDH_1 und bei malignen Tumoren vorwiegend der LDH_{2-4} (40).

Den meisten Methoden zum Nachweis der Isoenzyme haftet der Nachteil an, daß sie einen größeren apparativen und zeitlichen Aufwand erfordern. Klinisch brauchbare Methoden sollen aber möglichst einfach auszuführen sein und schnell zuverlässige Ergebnisse liefern. Inzwischen ist es für die LDH gelungen, mit Hilfe der fraktionierten thermischen Inaktivierung einen einfachen, hinreichend genauen Test zu entwickeln (3, 8, 19, 22, 27), mit dem zwei, resp. drei Fraktionen (40) bestimmt werden können. Die Methode hat sich für die klinische Routinediagnostik bewährt.

Die LDH_1 bleibt im Wasserbad bei 65°C 30 Minuten inkubiert aktiv. Die LDH_5 verliert ihre Aktivität bereits bei 56°C vollständig. LDH_{2-4} Isoenzyme bleiben zwar bei 56°C aktiv, werden bei 65°C aber inaktiviert.

Untersuchungen über das elektrophoretische Verhalten der Transaminasen liegen nur vereinzelt und mit widersprechenden Ergebnissen vor. Das thermische Verhalten unter physiologischen und pathologischen Bedingungen ist bisher nicht untersucht.

Die große Bedeutung der Transaminasen für die Diagnose von Hepatitis und Herzinfarkt läßt es angeraten erscheinen, gleichfalls ihr elektrophoretisches Verhalten und ihre thermische Stabilität näher zu untersuchen.

M e t h o d i k

1. Transaminasen:

Transaminasen übertragen die Aminogruppe der Alpha-Aminosäuren auf Ketosäuren (Transaminierung).

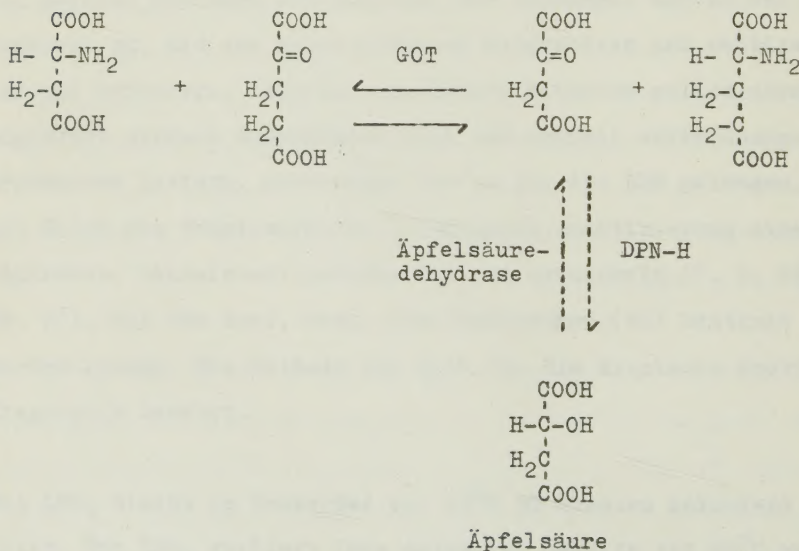
Sie können im gekoppelten optischen Test oder kolorimetrisch bestimmt werden.

GOT - Bestimmung im gekoppelten optischen

Test nach Warburg.

Asparaginsäure + Alpha-Ketoglutaratsäure

Oxalessigsäure +
Glutaminsäure



Die bei der Fermentreaktion entstehende Oxalessigsäure wird durch eine Indikatorreaktion mit Äpfelsäuredehydrase (AeDH) und DPN-H bestimmt (gekoppelter opt. Test).

Reagentien: Biochemica Test-Combination Boehringer

1. Asparaginsäure ($4,2 \times 10^{-2} \text{M}$) Phosphatpuffer (0,1 M; pH 7,4)
2. Alpha-Ketoglutarsäure - Na (0,2 M).
3. DPN-H Lösung ($1,2 \times 10^{-2} \text{M}$).
4. Äpfelsäuredehydrogenase (AeDH) 0,5 mg Enzymprotein/ml

Ausführung:

In 1 cm Küvette werden nacheinander einpipettiert:

2,30 ml Asparaginsäure-Phosphatpuffer

0,05 ml DPN-H

0,05 ml AeDH

0,50 ml Serum (oder andere Untersuchungslösung).

Nach Mischen 15 Minuten bei 25°C stehen lassen. Danach Küvette in temperierbarem Küvettenhalter des Photometers bringen.

Starten der Fermentreaktion durch Einpipettieren von

0,1 ml Ketoglutarat

und mischen mit Plastikrührer.

Berechnung:

Die Extinktionsabnahme wird über 4 Minuten jede Minute (Stoppuhr) gemessen.

Gemäß der International Union of Biochemistry (Commission of Enzymes, ist die Internationale Einheit als die Enzymmenge, die bei 25°C in 1 min. 1 μ Mol Substrat umsetzt, definiert.

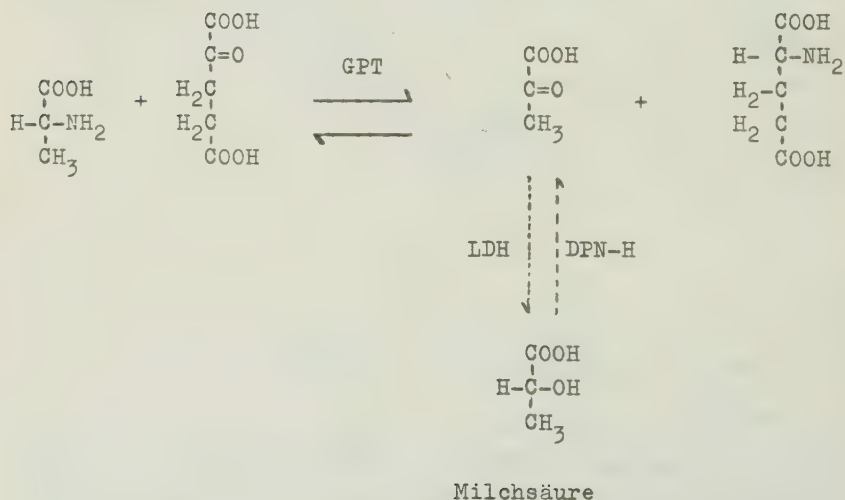
Der molare Extinktionskoeffizient von DPN-H beträgt bei 366 mμ $3,3 \cdot 10^6 \text{ cm}^2/\text{Mol}$. Daraus ergibt sich bei einem Testvolumen von 3,00 ml bei 0,5 ml Serum ein Umrechnungsfaktor von 1820, d.h. die gefundene Extinktionsabnahme pro Minute mit 1820 multipliziert ergibt Internationale Einheiten.

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

(Optischer Test)

Prinzip: GPT-Bestimmung im gekoppelten optischen Test
nach Warburg.

Alanin + Alpha-Ketoglutaratsäure Brenztraubensäure + Glutaminsäure



Die bei der Fermentreaktion entstehende Brenztraubensäure (Pyruvat) wird durch Indikatorreaktion mit Laktatdehydrogenase (LDH) und DPN-H bestimmt (gekoppelter optischer Test).

Reagenzien: Biochemica-Test-Combination Boehringer, Mannheim

1. Alanin ($1,1 \times 10^{-1}$ M)/Phosphatpuffer (0,1 M).
2. Alpha-Ketoglutar säure-Na (0,2 M).
3. DPN-H Lösung ($1,2 \times 10^{-2}$ M).
4. Laktat-Dehydrogenase (LDH); 0,5 mg Enzymprotein/ml.

Ausführung:

In 1 cm Messküvette werden nacheinander einpipettiert:

2,30-ml Alanin-Phosphatpuffer

0,05 ml DPN-H

0,05 ml LDH

0,50 ml Serum

Der weitere Analysengang verläuft wie bei der GOT beschrieben.

Die Berechnung ist mit der GOT Methode identisch.

2. Aufbereitung der Organe

Die Organe wurden spätestens 12 Stunden post mortem aus der unterkühlten Leiche entnommen*. 500 mg Feuchtgewicht wurden in 10 ml Trispuffer (pH 7,4; 0,05 m) im Ultraturrax-Homogenisator zerkleinert und anschließend 0,25 ml 20 %iges Humanalbumin

* Die Organe wurden freundlicherweise vom pathologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Dir. Prof. Dr. E. Müller) zur Verfügung gestellt.

min dem Homogenat zugesetzt (Endkonzentration 0,5 %).

Das Homogenat wurde 15 Minuten hochtourig zentrifugiert und der Überstand zur Enzymbestimmung und Enzyminktivierung verwendet.

3. Stärkeblockelektrophorese der Serum-Transaminasen.

Die elektrophoretische Trennung des Serums geschah auf Stärkeblock nach der Methodik von Berg (4). Die fünf, den Serum-eiweissen zugehörigen Fraktionen wurden zerschnitten, die enthaltenen Enzyme mit Trispuffer (pH 7,4; 0,05 m) 20 Minuten bei Zimmertemperatur eluiert und nach Zentrifugation im Eluat die Enzymaktivität im optischen Test bestimmt. Aus der Summe (=100 %) der Enzymaktivität in den getrennten Fraktionen wurde der Aktivitätsanteil der Einzelfraktionen berechnet.

4. Thermische Inaktivierung.

Hämolyse-reies Serum wurde unverdünnt in gut verschlossenen Röhrchen bei 56°C und 65°C 30 Minuten im Wasserbad inkubiert und anschließend auf Zimmertemperatur abgekühlt. Ebenso wurde mit dem unverdünnten Organextrakt verfahren.

E r g e b n i s s e

Elektrophoretische Trennung der Serumtransaminasen.

In allen fünf auf Stärkeblock elektrophoretisch getrennten Serumeiweißfraktionen hat sich Transaminaseaktivität nachweisen lassen. Die Ergebnisse für die GOT zeigt Tabelle 1 und Abbildung 1, für die GPT Tabelle 1 und Abbildung 2. Über 50 % der Gesamtaktivität fand sich in einer Fraktion. Die Transaminasen GOT und GPT verhielten sich dabei unterschiedlich.

Der überwiegende Teil der GOT wanderte im Alpha₂-Globulin, der GPT im Beta-Globulin. Die Verteilung in den anderen Fraktionen war sowohl für die GPT wie für die GOT uncharakteristisch. Es zeigte sich keine Abhängigkeit von der Gesamttransaminasenaktivität. In Seren mit unterschiedlich hoher pathologischer Aktivität waren keine grösseren Unterschiede der prozentualen Verteilung in den Einzelfraktionen nachweisbar. Pathologisch erhöhte GOT bei Hepatitis und nach Herzinfarkt verhielt sich ähnlich.

Tabelle 1

Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT)

Gesamtaktivität IE	Diagnose	Albumin	Verteilung in % der Gesamtaktivität			
			α_1	α_2	β	γ
128	Hepatitis	10	4	66	8	12
480	Hepatitis	9	12	49	17	13
76	Herzinfarkt	18	19	50	9	4

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Gesamtaktivität IE	Diagnose	Albumin	Verteilung in % der Gesamtaktivität			
			α_1	α_2	β	γ
890	Hepatitis	18	13	12	47	10
620	Hepatitis	8	7	14	62	8
65	Lebercirrhose	12	19	7	51	11

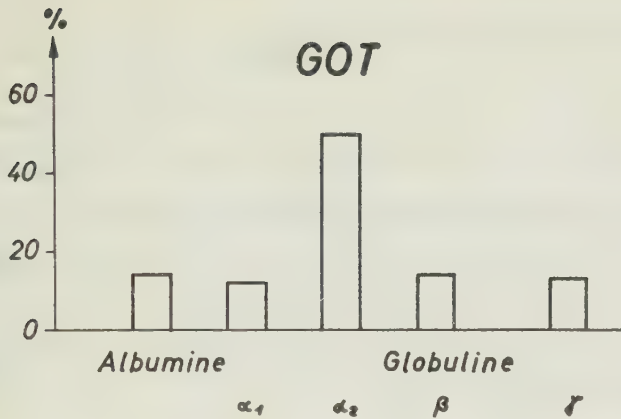


Abb. 1: Elektrophoretische Trennung der Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT) Aktivität. (Mittelwert aus 3 Elektrophoresen). Über 50 % der Gesamtaktivität wandert mit den Alpha₂-Globulinen.

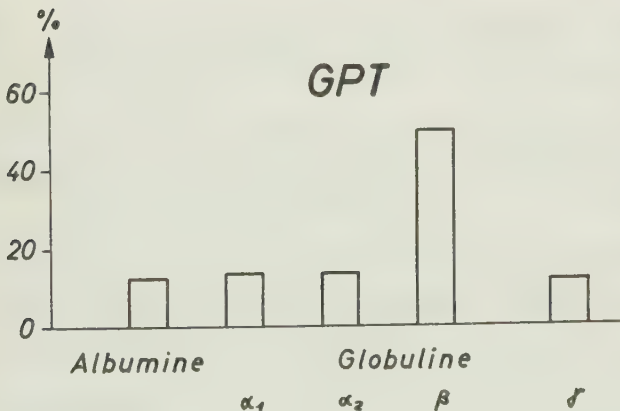


Abb. 2: Elektrophoretische Trennung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) Aktivität. (Mittelwert aus 3 Elektrophoresen). Über 50 % der Gesamtaktivität wandert mit den Beta-Globulinen.

Thermische Stabilität der Transaminasen.

Erfahrungen mit der Laktatdehydrogenase (LDH) haben gezeigt, daß Unterschiede in der thermischen Stabilität zwischen Herzmuskel- und Erythrozytenenzymen einerseits sowie Leber- und Skelettmuskelisoenzymen andererseits bestehen; erstere sind bei 65°C thermostabil, letztere bereits bei 56°C aktivierbar. Die Stabilität der Serumenzyme verhielt sich analog, abhängig vom jeweiligen Herkunftsorgan.

Diese Ergebnisse mit der LDH wurden auch den Transaminaseuntersuchungen zugrunde gelegt und die Enzymstabilität bei 56°C und 65°C in Organextrakten und im Serum bestimmt (Tabelle 3 und Abbildung 4).

Die thermische Enzyminaktivierung der LDH hat sich als eine Funktion von Temperatur, Zeit und pH (40) ergeben. Für die Muskel-LDH wurde bei pH 6,0 eine maximale Stabilität gefunden (40). Für die GOT und die GPT waren die Unterschiede weniger deutlich (Tabelle 2). Die Enzymstabilität war zwischen pH 6-7 für die GPT, um pH 7 für die GOT am größten. Im stark alkalischen Bereich nahm die Enzymstabilität für beide Fermente deutlich ab. Eine spontane Inaktivierung war innerhalb der Untersuchungszeiten (1/2 - 1 Stunde) und der gemessenen pH Bereiche nicht nachzuweisen.

Tabelle 2

GOT

	pH	4,8	6,3	7,4	10,5
<u>Serum</u>	56°	50%	50%	80%	42%
	65°	25%	25%	59%	12%
<u>Leber</u>	56°	24%	30%	75%	51%
	65°	5%	9%	48%	12%

GPT

<u>Serum</u>	56°	32%	38%	42%	15%
	65°	12%	20%	10%	10%
<u>Leber</u>	56°	23%	35%	30%	14%
	65°	10%	11%	5%	5%

Tab. 2: Einfluß des pH Wertes auf die thermische Inaktivierung der Transaminasen.

Angegeben ist die Restaktivität in % der Gesamtaktivität. 30 Minuten Inkubation bei 56°C und 65°C.
(Serum und Leberhomogenat).

Das Verhalten der Inaktivierung bei unterschiedlichen Inkubationszeiten zeigt die Abbildung 3. Der Aktivitätsabfall verläuft nicht linear. Ähnlich wie bei der Laktatdehydrogenase nimmt die Aktivität innerhalb der ersten 15 - 30 Minuten schnell, dann nur noch langsam ab. Nach 30 Minuten ist die Inaktivierungsrate pro Minute nur noch relativ klein, so daß geringe Zeitdifferenzen bei Inkubationen über 30 Minuten keine grösseren Fehler mehr verursachen dürften.

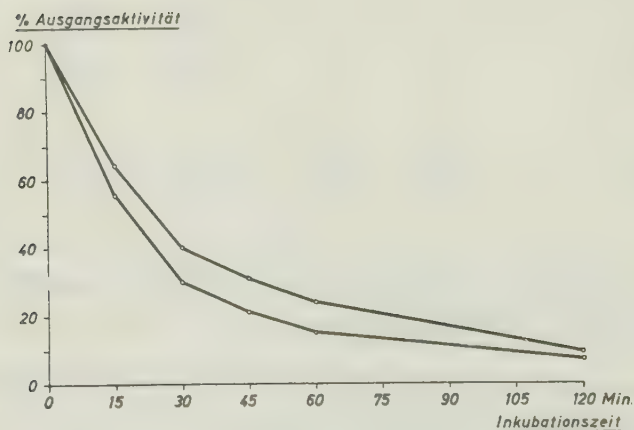


Abb. 3: Inaktivierung von Serum GPT bei 56°C. Verhalten der Fermentaktivität bei unterschiedlichen Inkubationszeiten.

Organextrakte.

Die GOT-Aktivität in den untersuchten Organextrakten wurde nach 30 Minuten Inkubation bei 56°C nur geringgradig beeinträchtigt (Tabelle 3, Abbildung 4). Im Mittel bleiben über 80 % der Aktivität erhalten. Signifikante Unterschiede zwischen Leber-, Herzmuskel-, Niere- und Skelettmuskel ließen sich nicht nachweisen. Lediglich die GOT im Pankreashomogenat erwies sich als hitzeempfindlicher und wurde bei 56°C bereits um 40 % inaktiviert. Auch bei 65°C ergaben sich zwischen den untersuchten Organen keine grösseren Unterschiede. Die Enzymaktivität blieb, abgesehen von der GOT im Pankreasextrakt zu etwa 40 - 50 % erhalten.

Tabelle 3

GOT	18°C	56°C	Mittelwert	65°C	Mittelwert
	100%	100%		57%	
Leber	100%	92%	95,6%	46%	51,3%
	100%	95%		41%	
	100%	100%		45%	
Herzmuskel	100%	100%	98,3%	36%	35,6%
	100%	95%		26%	
	100%	70%		14%	
Niere	100%	38%	82,0%	62%	40,3%
	100%	93%		45%	
	100%	69%		22%	
Pankreas	100%	50%	62,3%	20%	16,6%
	100%	68%		8%	
	100%	100%		50%	
Skelett- muskel	100%	100%			
GPT					
	100%	28%		5%	
Leber	100%	20%	27,6%	0%	3,0%
	100%	35%		4%	
	100%	55%		7%	
Herzmuskel	100%	55%	53,0%	9%	7,6%
	100%	49%		7%	
	100%	35%		6%	
Niere	100%	53%	36,0%	8%	11,0%
	100%	38%		19%	
	100%	41%		1%	
Pankreas	100%	26%	33,3%	10%	3,6%
	100%	33%		0%	
	100%	33%		6%	
Skelett- muskel	100%	33%			

Tab. 3: Thermische Inaktivierung der Transaminasen in Organ-
homogenaten. Inkubationszeit 30 Minuten, pH 7,4.
 Angegeben ist die Restaktivität in % der Ausgangs-
 aktivität.

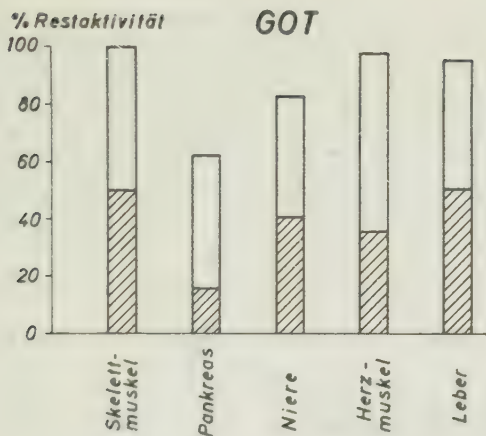


Abb. 4: Thermische Inaktivierung der GOT (Glutamat-Oxalat-Transaminase) in verschiedenen Organhomogenaten (Mittelwerte).

Gesamtsäule = Restaktivität nach 30 Minuten Inkubation bei 56°C.

Schraffierter Teil = Restaktivität nach 30 Minuten Inkubation bei 65°C.

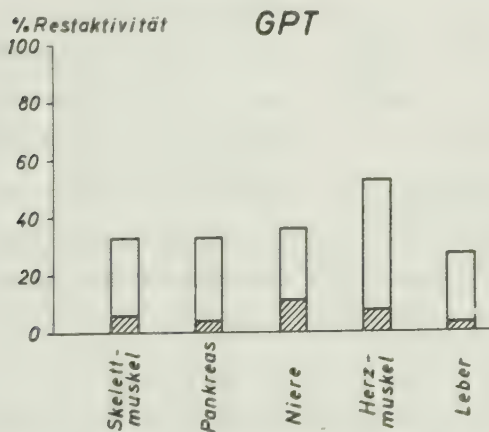


Abb. 5: Thermische Inaktivierung der GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) in verschiedenen Organhomogenaten.

Gesamtsäule = Restaktivität nach 30 Minuten Inkubation bei 56°C.

Schraffierter Teil = Restaktivität nach 30 Minuten Inkubation bei 65°C.

Ein grundsätzlich anderes Verhalten gegenüber Hitzeeinwirkung zeigte die GPT (Tabelle 3, Abbildung 5). Das Ferment war erheblich hitzelabiler und bereits bei 56°C ging der überwiegende Teil der GPT-Aktivität verloren. Im Mittel fanden sich nur noch 40 % Restaktivität. Bei 65°C war das Enzym praktisch inaktiv. Die Mittelwerte lagen, bis auf die Nieren-GPT, unter 10 % Restaktivität. Wie bei der GOT ließen sich keine Unterschiede zwischen Leber, Herzmuskel, Niere und Skelettmuskel nachweisen. Auch das Pankreas nahm bei der GPT im Gegensatz zur GOT keine Sonderstellung ein.

Serum.

Nach dem thermischen Verhalten in den Organextrakten und den Befunden mit der Elektrophorese war es unwahrscheinlich, für die GOT oder die GPT im Serum wesentliche Unterschiede der thermischen Stabilität zu finden. Die Tabellen 4 und 5 zeigen die Ergebnisse der Inaktivierung für die GPT und GOT bei verschiedenen Krankheiten. Die Unterschiede zu den Enzymstabilitäten in den Organen waren nur gering. Die GOT erwies sich bei 56°C ausnahmslos als stabil (Restaktivität über 80 %). Und auch bei 65°C waren noch Enzymaktivitäten um 50 % nachzuweisen. In Einzelfällen allerdings auch unter 30 %.

Wie zu erwarten war die GPT deutlich labiler. Nach 30 Minuten Inkubation bei 56°C blieben um 30 %, bei 65°C um 10 % der

Ausgangsaktivität erhalten. Unterschiede bei den einzelnen Leberkrankheiten wurden für die GOT und die GPT nicht deutlich, und auch bei einem Patienten mit Herzinfarkt ließ sich für die GOT keine Abweichung im thermischen Verhalten erkennen (Tabelle 4).

Tabelle 4

Nr.	Name	Diagnose	Gesamtaktivität	56°C	65°C
1.	Sch..	Bil.Cirrhose	102	100%	90%
2.	R....	Uraemie	41	85%	75%
3.	Z....	Lebercirrhose	122	100%	81%
4.	Th...	Hepatitis	557	91%	85%
5.	Cl..	Hepatitis	299	78%	67%
6.	Sch..	Hepatitis	95	92%	70%
7.	Ha...	Pilzvergiftung	2000	97%	80%
8.	El...	Hepatitis	417	93%	80%
9.	W....	Megaphenikterus	227	93%	70%
10.	N....	Ikterus	200	95%	80%
11.	Sch..	Hepatitis	376	100%	80%
12.	H....	Hepatitis	199	91%	32%
13.	He...	Hepatitis	-	98%	18%
14.	K....	Muskeldystr.	87	92%	42%
15.	D....	Hepatitis	137	97%	23%
16.	H....	Hepatitis	253	75%	62%
17.	P....	Hepatitis	792	80%	55%
18.	G....	Hepatitis	73	92%	57%
19.	D....	Uraemie	98	81%	50%
20.	F....	Lebercirrhose	75	88%	78%
21.	P....	Stauungsikterus	75	82%	28%
22.	R....	Herzinfarkt	-	89%	71%
			<u>Mittel:</u>	90,47%	62,04
			<u>Bereich:</u>	(100-75)	(90-18)

Thermische Inaktivierung der Serum-GOT bei verschiedenen Krankheiten (% = Restaktivität) Inkubationszeit 30 Minuten.

Tabelle 5

Nr.	Name	Diagnose	Gesamtaktivität (I.E.)	56°C	65°C
1.	Sch..	Bil.Cirrhose	57	32%	16%
2.	R....	Uraemie	135	36%	9%
3.	Z....	Lebercirrhose	591	80%	5%
4.	Th...	Hepatitis	224	60%	3%
5.	Cl...	Hepatitis	504	36%	7%
6.	Sch..	Hepatitis	450	56%	21%
7.	Ha...	Pilzvergiftung	2000	45%	10%
8.	El...	Megaphenikterus	219	55%	15%
9.	W....	Ikterus	238	52%	15%
10.	N....	Hepatitis	404	50%	10%
11.	Sch..	Hepatitis	782	60%	10%
12.	H....	Hepatitis	250	45%	10%
13.	He...	Hepatitis	375	47%	14%
14.	K....	Hepatitis	732	45%	5%
15.	D....	Hepatitis	131	32%	3%
16.	H....	Uraemie	119	39%	3%
17.	P....	Lebercirrhose	91	37%	7%
18.	G....	Stauungsikterus	109	30%	5%
<u>Mittel:</u>				46,5%	9,33%
<u>Bereich:</u>				(30-80)	(3-21)

Thermische Inaktivierung der Serum-GPT bei verschiedenen Krankheiten (% = Restaktivität). Inkubationszeit 30 Minuten.

Den Vergleich der Mittelwerte der Enzymaktivität von GOT und GPT nach thermischer Inaktivierung zwischen Serum und verschiedenen Organen zeigt Abbildung 6. Abgesehen vom Pankreas ergeben sich keine signifikanten Unterschiede bei 56°C und 65°C. Es dürfte hieraus zu entnehmen sein, daß durch Hinzu-

fügen von 0,5 % Serumalbumin zu den Organextrakten eine ausreichende Fermentstabilisierung erzielt worden ist.

Aus Untersuchungen mit der LDH ist bekannt (40), daß stärkere Enzymverdünnungen, wie sie in Organhomogenaten vorkommen, ohne ausreichenden Begleitproteinschutz große Labilität zeigen.

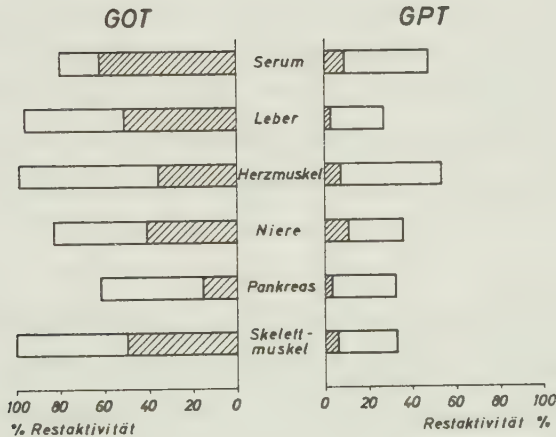


Abb. 6: Thermische Inaktivierung der Transaminasen (GOT und GPT) im Serum und in verschiedenen Organen. Gesamtsäule = Restaktivität nach 30 Minuten Inkubation bei 56°C. Schraffierter Teil = Restaktivität nach 30 Minuten Inkubation bei 65°C.

D i s k u s s i o n

Über elektrophoretische Untersuchungen an Serumtransaminasen liegen bisher keine einheitlichen Ergebnisse vor.

SEVELA fand 1958 die GOT des menschlichen Serums im Alpha₂-Globulin. Auch BROSSARD teilte 1961 gleiche Befunde mit. PIETSCHMANN und Mitarbeiter berichteten dagegen 1960, daß die GOT in der Albuminfraktion und im Alpha₁-Globulin lokalisiert sei. Die eigenen Befunde ergaben ein Überwiegen im Alpha₂-Globulin und stimmen mit den Angaben von SEVELA und BROSSARD überein. Es muß dahingestellt bleiben, ob die in relativ geringer Menge auch in den anderen Fraktionen gefundene Aktivität durch strukturell unterschiedliche Enzyme ("Transaminasenisoenzyme") bedingt ist oder ob es sich um sog. "verschleppte Aktivität" handelt. Letzteres erscheint wahrscheinlicher. BROSSARD (6) konnte nachweisen, daß bei Anwesenheit großer Mengen enzymatisch inaktiver Eiweisse, wie im Serum, die freie Wanderung der Transaminasen (GOT) beeinflußt wird. Auch die gleichbleibende Verteilung der Transaminasen in den einzelnen Eiweißfraktionen und die fehlenden Unterschiede in der thermischen Stabilität sprechen gegen das Vorhandensein grösserer Mengen von Isoenzymen der Transaminasen im Serum. Zumindest läßt sich aus den Untersuchungen aber der Schluß ziehen, daß weder aus den Ergebnissen elektrophoretischer Auftrennungen noch durch thermische Inaktivierung der GOT und GPT verwertbare diagnostische Schlüsse möglich sind.

Auffallend ist das unterschiedliche Verhalten in der elektrophoretischen Wanderung und gegen Hitzeeinfluß zwischen GOT und GPT. Die im Alpha_2 -Globulin lokalisierte GOT verhielt sich thermisch relativ stabil, während die GPT größere Hitzeempfindlichkeit zeigte. Es drängt sich der Vergleich mit den LDH-Isoenzymen auf, bei denen ebenfalls mit grösserer elektrophoretischer Wanderungsgeschwindigkeit die thermische Stabilität zunimmt. Wir wissen nicht, wie sich andere Gewebs- und Plasmaenzyme gegenüber thermischer Energie verhalten, so daß es vorerst dahingestellt bleiben muß, ob grundsätzlich elektrophoretisch schnell wandernde, d.h. eine grössere Ladung tragende Enzyme gegen Hitzeeinwirkung stabiler sind, oder ob andere Gründe für die Hitzestabilität verantwortlich zu machen sind.

Trotz fehlender Hinweise auf die Existenz von Isoenzymen im Serum besteht kein Zweifel am Vorkommen von Isoenzymen der GOT in den Organen. Im tierischen und menschlichen Gewebe (Herzmuskel und Leber) fanden FLEISCHER und WAKIN (10, 11) elektrophoretisch und chromatographisch differenzierbare GOT-Fraktionen mit unterschiedlichen Substrataffinitäten und pH Optima.

Die schneller wandernde erheblich größere Fraktion (GOT I) wurde im Zellprotoplasma, die zweite Fraktion (GOT II) mitochondrial gebunden nachgewiesen (5). Es bedarf der Diskussion, warum unter pathologischen Bedingungen dennoch meßbare Mengen

nicht im Serum erscheinen, zumal angenommen werden muß, daß z.B. beim Herzinfarkt oder bei schwerem Leberschaden auch die Mitochondrien in Mitleidenschaft gezogen werden.

Nach experimentellen Leberschäden beim Hund durch Tetrachlor-kohlenstoff haben FLEISCHER und WAKIN (10, 11) auf der Höhe des Enzymanstiegs nach 2 Tagen im Serum der Tiere in der Tat GOT II (Mitochondrienenzym) mit 10 % der Gesamtaktivität nachweisen können. Die GOT II Aktivität fiel aber rasch mit Absinken der Gesamt GOT-Aktivität wieder ab. Die Ursache des nur kurzzeitigen und geringen Serum-GOT II Anstieges dürfte verschiedene Gründe haben, die auch für das Fehlen von Serum-isoenzymen in der menschlichen Pathologie ursächlich verantwortlich sein könnte.

1. Die absolute Aktivität der GOT II ist geringer als die der GOT I.
2. Die Freisetzung der in den Mitochondrien lokalisierten Fermente (M-Raum) ist weniger leicht als die der Enzyme des C-Raumes.
3. Das Mitochondrienenzym liegt nach BOYD primär inaktiv vor und bedarf zunächst der Aktivierung z.B. durch Zellzerfall u.a.
4. Es ließ sich der Nachweis erbringen, daß die GOT II Elimination aus dem Serum erheblich schneller verläuft als die der GOT I. Von intravenös zugeführtem GOT I beim Hund sind

noch nach 2 Tagen deutliche Aktivitäten nachweisbar - die GOT II ist bereits nach 5 Stunden im Plasma inaktiviert oder eliminiert.

Alle diese Gründe machen es verständlich, daß die GOT-Isoenzyme auch im pathologischen Serum nicht in so großen Konzentrationen vorliegen, daß sie mit den verfügbaren Methoden nachweisbar werden.

Insgesamt läßt sich sagen, daß obwohl GOT-Isoenzymfraktionen im Herzmuskel und in der Leber nachgewiesen sind für die Serumfermentdiagnostik die Isoenzyme der Transaminasen keine praktisch verwertbare Ergebnisse bringen.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Bei der elektrophoretischen Auftrennung von Serumeiweißen hat sich eine unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit der beiden Transaminasen GOT und GPT ergeben.

Die GOT wandert überwiegend im Alpha₂-Globulin, die GPT im Beta-Globulin.

Unterschiede in der elektrophoretischen Wanderung bei Normalpersonen, verschiedenen Leberkrankheiten und Herzinfarktpatienten waren nicht nachweisbar.

Entsprechend dem differenten elektrophoretischen Verhalten ließen sich auch deutliche Unterschiede gegen Hitzeinaktivierung nachweisen.

Die GPT erwies sich als empfindlicher gegen thermische Energie. Bei 56°C und einer Inkubationszeit von 30 Minuten wurde die Serum-GPT über 50 %, bei 65°C über 90 % inaktiviert. Die GOT verlor bei 56°C dagegen etwa 10 %, bei 65°C 40 % ihrer Aktivität.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Amelung, D.: Dtsch. med. Wschr. 88 (1963) 1940
2. Bär, U.: Klin. Wschr. 41 (1963) 977
3. Bell, L.: Amer. Journ. Clin. Path. 40, No. 2 (1963) 216
4. Berg, G., L.R. Trabulsi u. F. Scheiffarth: Klin. Wschr. 1958, 202
5. Boyd, J.W.: Biochem. J. 81 (1961) 434
6. Brossard, M.: Canadian Pharm Journ. 94, No. 6, 38-42
7. Cordoba, F.: Nature, 194, No. 4834 (1962) 1156
8. Dubach, U.C.: Schweiz. med. Wschr. Nr. 4592 (1962) 1436
9. Emmerisch, R. u. S. Zimmermann: Klin. Wschr. 37 (1959) 935
10. Fleischer, G.A., E.W. Plotter u. K.G. Wakim: Proc. Expl. Biol. a. Med. 103 (1960) 229
11. Fleischer, G.A. u. K.G. Wakim: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 106 (1961) 283
12. Goldhammer, H. u. I. Witte: Ärztl. Laborat. 10 (1964) 183
13. Hess, B. u. S.J. Walter: Klin. Wschr. 39 (1961) 213
14. Kubowitz, F. u. P. Ott: Biochem. Z. 314 (1963) 94
15. Markert, C.L. u. F. Möller: Proc. nat. Acad. Sci. (Wsh.) 45 (1959) 753

16. Nisselbaum, J.S. u. O. Bodansky: Journ. biol. Chem. 236, No. 2 (1961)
17. Nisselbaum, J.S. u. O. Bodansky: Journ. biol. Chem. 234, 5276 (1959)
18. Neilands, J.B.: Journ. Biol. Chem. 199 (1952) 373
19. Orelli, A.V. u. U.C. Dubach: Klin. Wschr. 42 (1964) 58
20. Pfleiderer, G. u. D. Jeckel: Biochem. Z. 329 (1957) 370
21. Pietschmann H., F. Reinhardt u. H. Puxkandl: Wien. Z. inn. Med. 3 (1960)
22. Plagemann, P.G.W., K.F. Gregory u. F. Wroblewski: Biochem. Z. 334 (1961) 37
23. Pryse-Dvies, J. u. J.H. Wilkinsen: Lancet, 1249 (1958)
24. Richterich, R.: Helv. Acta 18 (1960) 57
25. Scheiffarth, F., H. Götz, H. Warnatz u. K. Koch: Zeitschr. f. Gastroenterol. 2 (1964) 345
26. Schmidt, E., F.W. Schmidt u. Ch. Herfarth: Klin. Wschr. 40 (1962) 1133
27. Strandjord, P.E. u. K.J. Clayson: J. Lab. clin. Med. 58 (1961) 962
28. Strandjord, P.E., K.J. Clayson u. E.F. Freier: JAMA 182 No. 11 (1962) 1099
29. Seveka, M.: Nature 181 (1958) 916

30. Sheperd, H.G. u. H.H. McDonald: Clin. Chem. 4 (1958) 13
31. Vesell, E.S. u. A.G. Bearn: J. clin. Invest. 37 (1958) 672
32. Wieland, T. u. G. Pfeleiderer: Biochem. Z. 329 (1957) 112
33. Wieland, Ph., G. Pfeleiderer u. H.L. Rettig: Angew. Chemie 70 (1958) 341
34. Wieme, R.J.: Clin. chem. Acta 4 (1959) 317
35. Wieme, R.J.: Nature 199, No. 4892 (1963) 437
36. Wörner, W.: Med. Klin. 59 (1964) 434
37. Wroblewski, F., C. Ross u. K. Gregory: New England J. Med. 263 (1960) 531
38. Wüst, H., H. Schön u. G. Berg: Klin. Wschr. 40 (1962) 1169
39. Wüst, H., G. Berg u. H. Schön: Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 66. Kongress 1960 (Wiesbaden)
40. Wüst, H., E. Arnold u. H. Schön: Klin. Wschr. 851 (1965) (im Druck)
41. Zuppinger, K., R. Richterich u. E. Rossi: Schweiz. Med. Wschr. 92 Nr. 6 (1962) 169
Nr. 7 (1962) 198

Es ist mir eine angenehme Pflicht,
Herrn Prof.Dr.med.N.Henning
für die freundliche Überlassung
des Themas und die Übernahme
des Referates zu danken.

Herrn Dr.med. H. Wüst danke
ich für die bereitwillige
Unterstützung und Beratung
bei Abfassung der Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 9.1.1935 wurde ich, Gerhard, Anton B e e r als Sohn des Reichsbahnbeamten Georg Beer und seiner Ehefrau Margarete, geb. Pollinger in Cham geboren.

Nach 5 Klassen Volksschule in Cham besuchte ich das Gymnasium und machte 1955 in Ried im Innkreis das Abitur. Im Wintersemester 1955/56 immatrikulierte ich mich an der Medizinischen Fakultät der Universität Wien und wechselte in dem folgenden Semester zu der Philosophischen Fakultät über.

Vom Sommersemester 1957 an studierte ich in Erlangen Medizin und machte hier 1959 das Physikum und 1963 das Staatsexamen mit der Note "Sehr gut".

Am 1.5.1963 begann ich meine Medizinalassistentenzeit an der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen. Vom 1.7.1963 bis 1.1.1965 arbeitete ich 8 Monate auf der internen und 10 Monate auf der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Cham.

Seit 1.1.1965 bin ich auf der chirurgisch-gynäkologischen Abteilung des Krankenhauses Furth tätig.



Buchdruck und Fotodruck: Ludwig Müller, Erlangen, Fahrstraße 5